

测定种子活力方法的探讨

IV 电 导 法

徐本美 顾增辉

(中国科学院北京植物所植物园)

任祝三*

(中国科学院昆明植物所植物园)

由脂质和蛋白质双分子层所组成的膜结构,可能随着细胞的代谢状态而变化。

细胞膜不仅是区分细胞内外的一个界面,而且还是物质转换、能量运转、信息交流传递的重要场合,一系列重要的生命现象,诸如细胞识别、激素作用、发育分化等均与细胞膜有关^[1]。

Hibbard和Miller早在1928年就指出:在大多数情况下,玉米、小麦、豌豆和猫尾草种子的发芽能力与种子浸出液的电阻有关。他们断定浸出液电阻减少是由于劣变种子膜透性增加而浸析出更多的盐所造成的。近年来有更多的报道证实:自然老化、晒种及机械损伤而引起劣变和受伤的种子比活性强及健全的种子浸出更多的盐。Matthews和Bradonck(1968)证明豌豆、菜豆田间出苗率与电导率存在反相关^[10]。由此可见生活力与电导率的反相关早已得到了公认。

1960年以后,人们发现仅仅用常规发芽法或快速测定生活力的方法已不足以表示种子的优劣,因而提出了活力概念。文献中有关用电导法测定种子劣变过程的报道常把活力与生活力相提并论,并得出了相同的结论:活力高者电导率低。实际上活力与电导率的关系要比生活力与电导率的关系复杂得多,因此更具有现实意义。本文拟就这方面的问题作些讨论。

材料与方 法

供试种子有:大豆、白菜、小麦、萝卜。精选大小均匀、颗粒饱满的种子,并将外观受损伤的种子剔除。测试大粒种子时除粒数相同外,还可用百分之一扭力天平进行定量。

由于不同活力水平种子的电导值之间的差异较小,为正确反映这一差异,就要求洗净种子及器皿,而且先用自来水洗净,然后用重蒸水冲洗数次。洗净的种子用定性滤纸吸尽浮水后,放入待测的容器内,

加入定量的重蒸水。大豆取50粒,加100毫升重蒸水;白菜种子0.3—0.5克,小麦1克左右,萝卜种子40粒,均加入10毫升重蒸水。在恒温水浴30°C左右或25°C左右室温下浸泡4—8小时(以种子吸胀为度)。种皮厚吸胀慢的种子,在吸胀12小时后可真空抽气两次(18分钟),抽毕继续浸泡;吸胀快的种子,水分加速进入细胞对萌发不利,一般不用真空抽气。反应完毕后摇匀溶液,用上海DDS—11A型(其中少数实验用天津DDS—11型)电导率仪测试。如果样品较少,能在短时间内完成测试,电极可直接插入中上层溶液进行测定。如果样品较多,则应倒出浸析液(中止反应)再行分别测定。

K₂O测定用岛津A—A610S型原子吸收/火焰分光光度计测定。

进行人工老化种子的条件:36°—39°C恒温箱,100%RH。种子老化后需与对照种子一起在25°C 93%RH条件下平衡水分^[8]24—48小时,或将老化种子在室温下干燥2—3天使它的含水量与对照种子相一致。

实验结果分析

一、测试种子的不同部分与电导实验的关系:

各类种子结构和成分的多样性决定了它们的吸水性能各不相同。有硬壳或种皮透性差的种子,可剥去外壳或种皮,也可延长浸泡时间,甚至可以用胚作实验,其结果无论是采用胚、去皮种子还是带皮种子所测得的电导率,老化种子均大于对照。如果以电导率

*任祝三同志来我园进修期间,参加了部分实验。

本文承郑光华同志审阅。K₂O测定由中国农科院分析室刘宝增、祁明承担。中国农科院金天秀同志提供小麦种子,北京市农科院蔬菜所提供白菜、萝卜种子,吉林农科院大豆研究所提供大豆种子,在此一并致谢。

的绝对值相比较, 胚 > 去皮种子 > 带皮种子, 说明裸露的胚较为敏感, 其物质交换快。

二、不同温度与电导实验的关系:

随着温度增加, 种子与无离子水之间的物质交换也加快, 例如小青菜在 15°C、25°C、35°C 浸种后所测电导率分别为 538、572、716 微姆欧/厘米/克。但温度过高或过低都对浸种有害^[5]。Kar-Ling Tao 证明 25°C 与 30°C 电导率差异不大^[8], 故采用此温度较为合适。温度对电导率的显著影响, 说明测定条件的标准化是很重要的。

三、浸种时间和电导实验的关系:

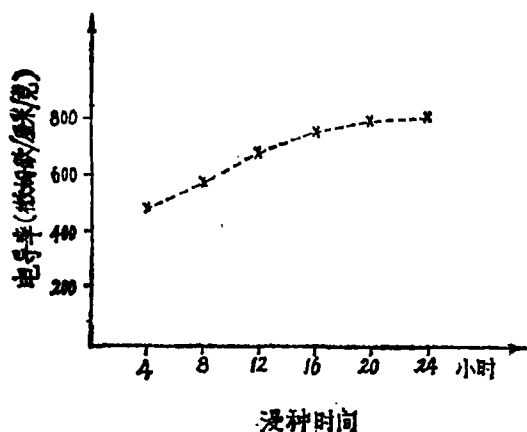


图 1 小青菜白菜种子不同时间的电导率

表 1 小青菜白菜浸种过程中平行样品电导率的比较

电 导 率 样 品 号	测 定 时 间	
	8 小时	24 小时
I	1.8×10^2	2.5×10^2
II	1.75×10^2	2.45×10^2
III	1.65×10^2	2.35×10^2

注: 电导率单位: 微姆欧/厘米/克

图 1 表明随浸提时间延长, 外渗电解质绝对值也有所增加, 直至充分吸胀为止, 故电导实验反应的时间以采用种子充分吸胀的时间较为稳定; 但表 1 结果说明 8 小时和 24 小时平行样品之间相对关系并未变化, 因此也可在种子充分吸胀之前作实验。反应时间不宜过长, 以防种子无氧呼吸或微生物污染而干扰实验结果。

四、电导率、绝对电导率及相对电导率的应用:

同一种种子测不同处理后的电导率, 可用电导率

(即直接测定种子的浸出液) 表示。可将种子及全部浸出液在沸水中煮 5—10 分钟, 冷却至待测温度再行测定。这时所测的电导率称之为绝对电导率, 它表示该品种细胞膜由半透膜变为通透膜后所能透出电解质的能力。绝对电导率随各品种的遗传特性而不同。在比较各品种之间电导率的差异时, 应采用相对电导率。相对电导率 = $\frac{\text{电导率}}{\text{绝对电导率}} \times 100\%$ 。劣变过程中随着种子贮存物质的消耗, 种子的绝对电导率下降, 因此也应采用相对电导率。

五、活力与电导率之间的关系:

一般认为活力高的种子电导率低, 符合于这一推理的实验结果如表 2 所示。

但值得指出的是, 表 2 中人工老化后的萝卜、菜豆种子的电导率大于对照是在它们的发芽率已有较大的差异时 (10% 以上) 发生的。1976 年自然老化的白菜种子当然是一特殊的例子, 因为它已完全丧失了发芽力。

我们在大量实验中却观察到相反的结果, 原因是这些实验都是基于要区分开活力和生活力的概念这一设想。因此, 无论是人工老化处理种子还是选用自然老化种子, 要求其发芽率与对照种子基本相同或相差无几 (10% 以内)。

图 2 表明小青菜白菜种子在 36°C 老化处理三天后发芽率与对照基本相同, 苗高对照大于处理, 表示对照活力高, 而且测定得的电导率也高。抱头白菜种子也得到了相同的实验结果。

同样, 在自然老化的萝卜 (图 3) 和小麦 (表 3) 种子也出现活力高、电导率高的趋势。

萝卜种子分别为不同年份收获, 贮存在冬天无取暖设备的平房内。把苗长作为活力强弱的指标, 以 1979 年种子活力为最大, 各年活力及电导率的大小次序排列均为 1979 > 1980 > 1981 > 1977。它们的发芽率相差幅度为 0—10%。

1974 年及 1981 年收获的小麦贮存在一般的地下室中, 常年温度为 20°C 左右, 四季室内温度与气温相差约 10°C 左右。三个品种两个年份发芽率相差幅度为 3—9%; 以芽鞘干重判断活力强弱, 均为 1981 年 > 1974 年; 同样电导率也是 1981 年 > 1974 年。

更为有意义的实验, 是在冰盒中 (0°C—-2°C) 经过 10、20、30 天锻炼的大豆种子 (图 4), 它们的发芽率略高于对照, 而苗长却显著增大, 表示活力强, 电导率也随锻炼而增加。这一结果, 不仅说明经锻炼的大豆种子抗冷能力增强了^[4], 而且这种抗逆力的增

表2 大豆、菜豆、白菜的电导率测定结果

测定项目 品种	处 理	电 导 率 (微姆欧/ 厘米/克)	发 芽 率 (%)
大 豆 (吉林3号)	对 照	50.5	87.2
	人工老化三天39°C, 100%RH	117.0	63.8
菜 豆	对 照	890*	86.7
	人工老化二天温箱36°C	990*	77.8
小 青 口	1979年种子	769.3	96.1
白 菜	1976年种子	1447.3	0

*单位为: 微姆欧—1/100粒

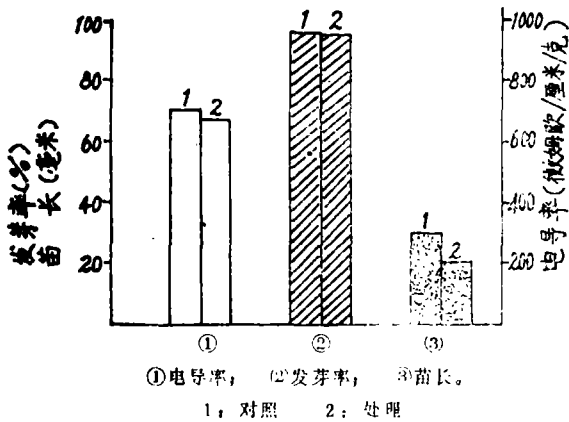


图2 小青口白菜种子电导率、苗长、发芽率的关系

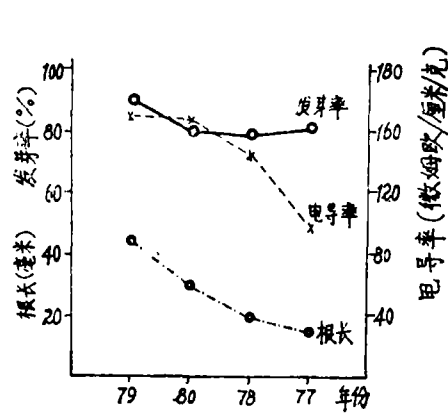


图3 不同年份收的萝卜种子发芽率、电导率、苗长的关系

Abdul-Baki 和 Anderson (1970) 报道了用实验方法强加的机械损伤引起种子浸析物增加并不降低活力或生活力, 以及加速老化引起活力降低并不增加浸析物的情况^[7]。说明他们也观察到活力与电导率相互关系中一些矛盾的现象, 但迄今大多数研究者对于低活力种子比高活力种子的浸出液所含电解质多这一论点, 无疑是持肯定态度的, 并且认为这种反相关

是基于三个因素: ①它反映了膜的完整性的丧失; ②它表示细胞基本组分的丢失; ③以致使微生物易于侵袭^[7]。

为了解活力与电导率之间的关系, 我们进而将小

表3 不同品种不同年份收的小麦种子电导率与活力的关系

测定项目	白 秋 麦 253		红 青 麦 699		白 壳 红 697	
	河北丰润		河北宁晋		河北宁晋	
年 份	1981年	1974年	1981年	1974年	1981年	1974年
相对电导率 %	74.2	71.7	76	64.5	87	72.3
发 芽 率 %	76.6	72.6	92	89.3	99.3	100
pH	6.08	5.93	6.03	5.93	6.05	5.82
芽鞘干重 (毫克/粒)	1.00	0.86	0.58	0.30	0.81	0.53

影响较小, 老化1—4天的种子电导率依次逐步下降并均小于对照。处理第四天的种子比对照电导率减少41%, 而发芽率和苗高变化较小, 但39°C老化条件却使白菜种子电导率急速上升, 处理第四天的种子比对照电导率增加145%、发芽率下降59%、平均苗高下降75%。由此可见, 两种不同温度的老化条件导致了截然不同的实验结果, 36°C老化的白菜种子电导率与

强是种子活力提高的一种表现。

更值得注意的是在锻炼种子与对照种子的相互比较中, 任何一方都不存在种子受损或劣变的状态, 而是锻炼种子比正常(对照)种子的健壮度加强了。

讨 论

上述一系列试验的结果表明, 在某些条件下人工老化种子(白菜)或自然老化种子(小麦、萝卜)活力减弱时, 其电导测定也出现“活力低者电导率低”的情况, 与理论上的推导不相符合。

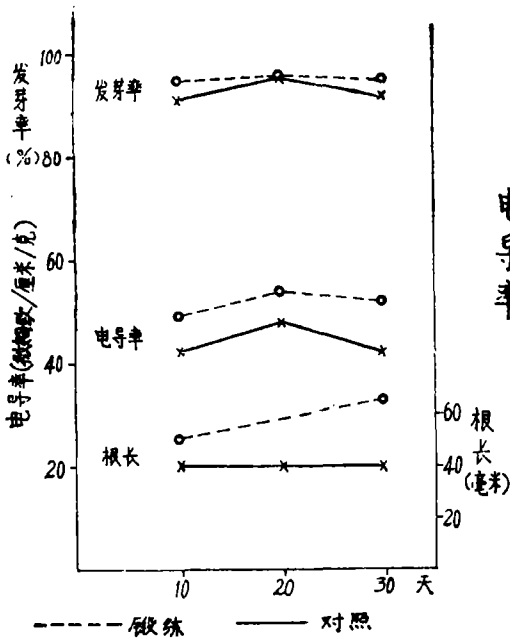


图4 锻炼的大豆种子电导率与活力的关系

活力呈现正相关，而39°C则显示反相关。推测这两种相关性在自然老化过程中都可能存在，只是不同种子对老化条件的要求会有些差异而已。上述36°C缓慢的劣变现象往往容易被忽略，而只有当发芽率显著下降时才会引起人们的重视。在这种情况下测得的电导率见表2所列。

在电导测定中首先讨论一下活力的定义是必要的，虽然到目前为止还没有一个公认的活力定义。生活力 (Viability) 即发芽力 (一般用发芽率来表示)。发芽率相同的两批种子还会有发芽速度、成苗速度的差异，所成的苗也有强弱之分；因此我们认为活力 (Vigor) 是指种子的健壮度，包括迅速整齐的发 芽潜力，以及生长潜势和生产潜力^[2]，是比生活力更能表示种子质量的一个生理指标。活力变化体现的差异更小，但是包括的范围更广，很不容易被测定。只有当活力变化到一定阶段时，即出现较大的差异，才会体现出生活力的变化。可以说生活力的变化必然包含着活力的变化，而活力变化不一定都意味着生活力有变化。L. Justice和L. N. Bass提出：种子生活力和活力的曲线变化非常相似，仅仅是种子活力的衰退先于生活力的衰退^[12]。真正的活力变化测试，应该是在较为接近的生活力水平上作比较，如图6虚线表示的无数活力变化阶段 (a₁a₂……)。我们的实验结

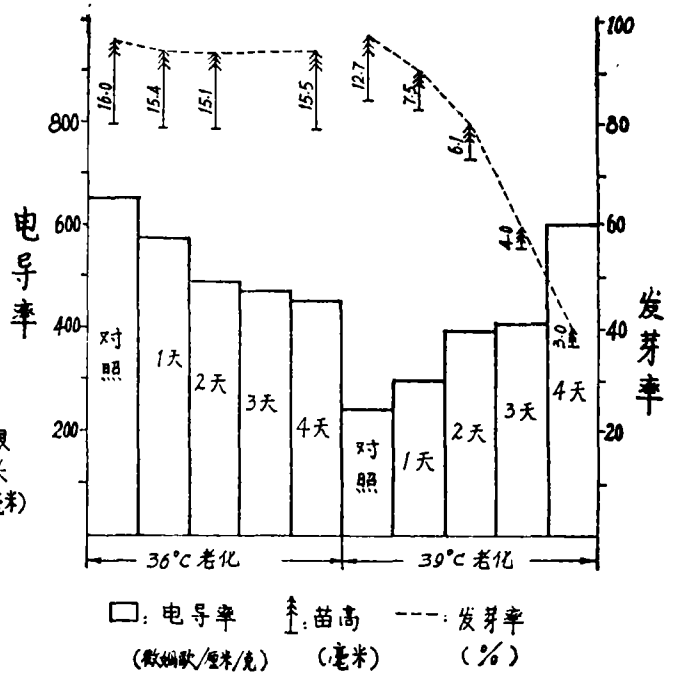


图5 两种老化条件处理的小青口白菜电导率与活力的关系

果，表明这些变化阶段的活力大小与所测电导率呈正相关。各种种子老化都可能存在这一过程，关键是掌握活力变化导致生活力变化的转折点。不同种子在不同条件下的转折点也各不相同。例如：36°C 100% RH条件下，白菜种子生活力变化不大，而活力则与电导率呈正相关；吉林3号大豆种子在此条件下，生活力变化较大，生活力与电导率呈反相关。目前大多数文献有关“活力高者电导率低”的结论^{[6][11]}有一定的局限性，原因在于只看到了活力与生活力的相似之处，而忽视了它们的不同点，起码是强调得不够。文献报道中，用电导法测定活力的变化是从广义上理解活力，实际上多数测的是生活力的变化，因为实验并未表明测试种子的发芽率。我们认为用电导率表示活力强弱时，应该预先了解种子发芽率的差异，才能便于判断。

发芽率究竟相差多大，活力与电导率才呈正相关，这是很难掌握的。它与不同种子对不同老化条件的反应有关系。从上述实验中可以观察到，两批种子发芽率相差值超过约10%，往往已属生活力变化的范畴，这种情况下生活力与电导率呈反相关。而活力与电导率呈正相关时，发芽率相差值往往不超过10%。

需要讨论的第二个问题，是细胞受损到什么程度才影响细胞膜的透性。细胞受冷害时透性加大^[3]，细

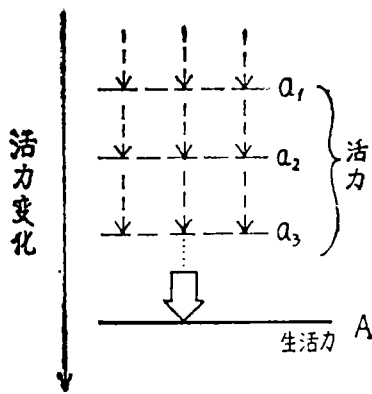


图6 活力变化示意图

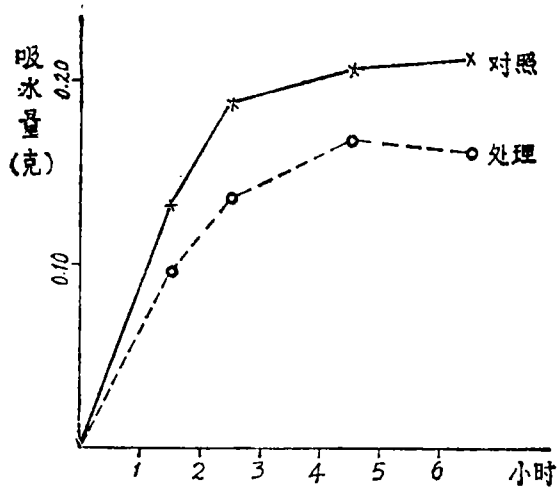


图7 抱头白菜老化种子(36°C)与对照种子吸水速度的比较

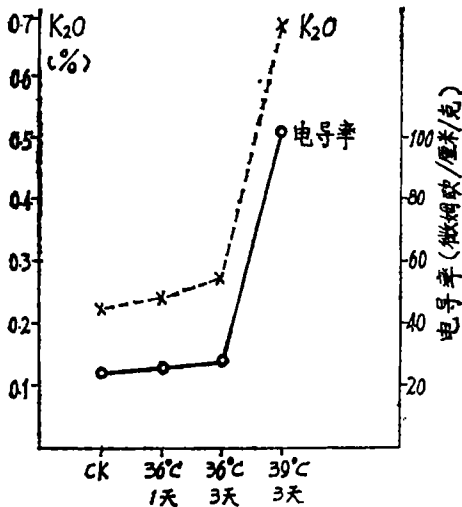


图8 大豆种子浸出液电导率与K₂O含量的关系

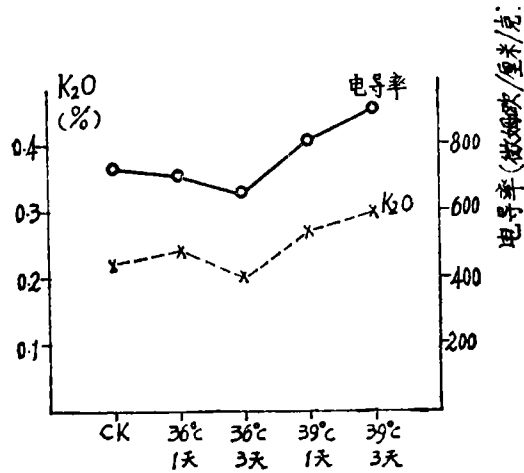


图9 白菜种子浸出液电导率和K₂O含量的关系

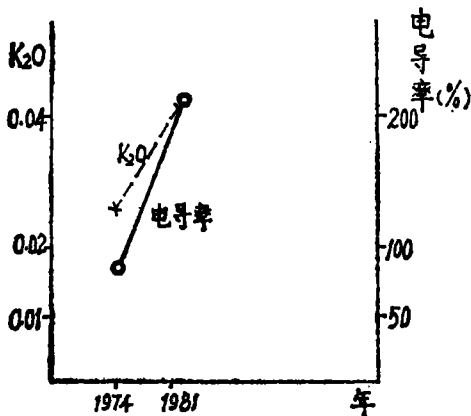


图10 小麦种子浸出液电导率与K₂O含量的关系

胞劣变过程中活力下降导致膜透性增加已为无数研究结果所证实。而发芽率相差不到10%时，活力下降导致电导率下降，以及锻炼后大豆种子活力提高、电导率提高这种现象，显然不是膜透性变化所能解释的。

用36°C、100%RH老化3天的抱头白菜种子与对照种子作吸水速度比较的实验(图7)表明，老化种子吸水速度慢；38°C、100%RH老化后的小青口白菜种子干物质消耗少于对照，这些都说明老化过程减弱了种子代谢强度，即减弱了种子萌发过程的第一阶段——封存系统的激活。Ching认为，这一阶段是关系到代谢“车轮”运转与否的关键，如能加速开始时的运转速度，则提高封存体系的功能就必能提高种子的发芽力^[9]。

种子吸胀过程排出钾离子是膜的被动通透现象,图8、图9、图10表明电导率与 K_2O 含量密切相关。表3还指出自然老化的小麦种子电导率高时pH值增大,也说明与浸出液钾离子增多有关。

Kozlowski指出,所有种子浸出液,例如无机盐、氨基酸、核苷酸和单糖都是很小的分子,它们从高密度溶剂穿过膜向一个很低浓度移动,而且是紧靠着浓度梯度移动,不一定包含膜透性的变化。事实上,最富有生活力的种子也有糖和盐渗透到浸出液中去^[10]。Koostra和Harrington(1969)从显微照相中观察到,新的和老化四天的大豆种子,它们胚轴中线粒体膜都是完整的。

我们认为种子轻微受损后,电导率、pH值和 K_2O 含量都稍小于对照,与膜的透性没有直接关系,即使膜的结构有变化,也尚未达到膜透性改变的地步。在膜透性改变之前,浸出液电导率的变化可能与代谢强度有关。Roberts(1972)曾解释,基本代谢的衰退是种子生活力丧失的内在原因之一。至于种子代谢活力增强、吸水速度加快何以导致浸析物增多的机理,还有待进一步研究。

结 束 语

活力概念包括的范围广,但在电导测定中应有别于生活力。

活力高者电导率低的笼统提法,已不能全面反映种子处于不同活力水平时电导率的情况。

用电导法测活力,必须了解发芽率才能正确判断活力水平,可用胚根、种苗的长度或干重作为活力高低的印证。我们的实验存在这种现象,当发芽率相差不大时(约在10%以内),细胞代谢强度有变化但并未改变膜的透性,活力与电导率呈正相关;而发芽率相差较大(超过约10%),细胞膜受损透性改变,则活

(上接第61页)自己组织力量进行人工接种鉴定,一般不易办到,而且也不经济。采用集中鉴定,鉴定单位力量较强,鉴定结果较可靠,而且可以分小种鉴定和混合多小种鉴定,可以及时发现抗多小种和抗个别小种的抗源,便于及时向育种单位和生产单位推荐,提高抗白粉病育种效果,并能及时为生产部门提供抗病品种合理布局的依据。

(五) 育种方法

1. 应采用多种抗源选育抗病品种,避免用单一抗源。
2. 目前能抗各种白粉病菌小种的抗源很少,可以

力与电导率呈反相关,我们认为这已属于生活力概念的范畴。

钾离子外渗与电导率紧密相关。

参 考 资 料

1. 陈季楚,“高等植物原生质膜的研究”,科学出版社,生物参考资料,1981,13集,247页。
2. 郑光华,“积极开展种子活力研究的建议”,种子杂志,1981,1期,214页。
3. 胡荣海等,“用质膜透性鉴定玉米苗期抗寒性”,植物生理通讯,1981,6期:35—37页。
4. 郑光华、顾增辉、徐本美,“大豆种子萌发过程中冷害问题的研究”,中国农业科学,1981,第二期,65—72页。
5. W. 克罗凯尔、L. V. 巴尔顿,“种子生理学”,科学出版社,1959,91页。
6. Te May Ching,“种子生理学”讲义,中国林业科学研究院林业研究所,1980,10。
7. Lowell W. Woodstock,“Physiological and Biochemical tests for seed vigor”,1973,Seed sci. & Technol. I, 127—157。
8. Kar-Ling Tao,“Factors Causing Variations in the conductivity test for soybean seeds”,Journal of seed Technology 1978, Vol. 3, No. 1。
9. Te May Ching,“Biochemical aspects of seed Vigor”,Seed sci. & Technol. 1973 Vol. 1(1)73:86。
10. T. T. Kozlowski,“Seed Biology” Vol. I, 1972:295—298。
11. Don. F. Grobe,“Measurement of Seed Vigor”,Journal of Seed Technology 1976 Vol. 1 Number 2. 18—32。
12. L. Justice and L. N. Bass,“Principles and practices of seed storage”,1978. P. 26。

采用抗病基因互补的育种办法,选育抗多种生理小种的小麦品种。

3. 我国多数麦区是多种小麦病害同时发生,仅抗白粉病的小麦品种在生产上无多大利用价值,必须选育兼抗品种,如抗白粉病兼抗三锈的品种,抗白粉病兼抗三锈和赤霉病的品种。

4. 在白粉病严重流行区建立杂种后代鉴定圃,便于正确选育抗白粉病的小麦品种。最好选择多种小麦病害同时严重流行区,作为杂种后代的抗病性鉴定圃。如贵州兴义县下午屯区,小麦白粉病和三锈发病年年都很重,有利于选育抗白粉病兼抗三锈的小麦品种。